

様式第4号－1

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	肥喜里 志門
学 位 の 種 類	博士（理学）
学 位 記 番 号	甲 第1454号
学位授与の日付	平成29年3月24日
学位授与の要件	文部科学省令学位規則 第4条第1項 該当
学 位 論 文 題 目	Computational methods for configurational entropy using internal and Cartesian coordinates
主研究指導教員	池口 満徳 教授
論 文 審 査 委 員	（主査）高橋 栄夫 教授
	（副査）木寺 詔紀 教授
	（副査）佐藤 衛 教授
	（副査）富井 健太郎 大学院客員教授

論文内容の要旨

タンパク質の特異的結合や立体構造形成など、多くの生命現象において、自由エネルギー変化は重要な役割を果たしている。応用面でも、例えば、立体構造ベースの創薬研究において、自由エネルギー変化はリガンドの結合能の指標として用いられている。その自由エネルギー変化の中には、タンパク質やリガンドの構造揺らぎに起因する構造エントロピーの寄与があり、近年、その重要性が注目されている。そこで、本研究は、分子動力学法に基づいた精度の高い構造エントロピー計算法の確立を目的として、研究開発を行った。

構造エントロピー計算は、理論的には、構造の分布関数からボルツマン・シャノン式によって求められるが、生体分子など自由度の大きい系では分布関数が超多次元になり、現実的には計算は困難である。そこで、構造エントロピー計算のための種々の近似法が提案されてきた。そのうちの 하나가、分布関数をガウス関数で近似することで構造エントロピー計算を可能とした擬調和近似(QH)法であり、世界中で幅広く用いられている分子シミュレーションパッケージにも採用されている。さらに、QH法について、変数ごとの独立項と変数間の2体の相関項に分割し、独立項については各変数のヒストグラムを用いて任意の分布に対応可能にしたボルツマン擬調和近似(BQH)法がQH法の発展型として提案されている。本研究では、これらQH、BQH法等について、精度評価を行い、精度悪化の原因を特定し、それらの改良法を提案した。

本研究は、以下の5つの観点で検討を行った。まず、第1の観点は、エントロピーを計算する座標系の問題である。通常用いられているパッケージでは、座標系としてデカルト座標系を用いているが、一方、原子間の共有結合距離、結合角、ねじれ角の三種類を変数とする内部座標系を用いた構造エントロピー計算法も提案されている。本研究では、温度変化のみ正確なエントロピー計算が可能なクラウジウス法との比較によって、低分子からタンパク質まで5つの分子について、それぞれの方法の精度を検証した。その結果、QH、BQH法では、内部座標系を用いるほうが、デカルト座標系を用いるより精度が高いことが明らかになり、その中でも、内部座標系のBQH法の精度が一番高いことがわかった。

第2の観点は、内部座標系におけるimproperねじれ角の導入である。QH、BQH法の検討の結果、通常のねじれ角のみで内部座標を記述すると、例えば、メチル基のように共有結合に分岐がある原子団に対して、ねじれ角変数に3体以上の相関が生じることが大きな精度悪化の原因となることがわかってきた。そこで、本研究では、improperねじれ角を新たにエントロピー計算に導入することにより、その相関を減じることで、QH、BQH法の精度向上に成功した。

第3の観点は、レプリカ交換分子動力学法の導入である。通常の分子動力学法では、局所構造にトラップされてしまい、構造エントロピー計算で重要な構造分布の収束が遅いという問題があった。そこで、本研究では、高温状態を経由することで局所構造にトラップされにくいレプリカ交換分子動力学法を用いることで、広範な構造サンプリングが可能になり、構造エントロピーの計算値のよい収束が得られた。

第4の観点は、温度一定での構造変化に対する構造エントロピー計算である。上記までは、構造エントロピーの温度変化についての検討であった。しかし、タンパク質foldingや結合など、多くの重要なプロセスは温度一定下で起こるため、その検討も必要である。そこで、本研究では、小タンパク質シニョリンのfolding/unfolding過程をレプリカ交換分子動力学法により計算し、foldingに伴う構造エントロピー変化の検討を行った。比較対象としては、自由エネルギーの温度微分から計算されたエントロピー値を用いた。その結果、温度変化と同様、内部座標系を用いたBQH法の精度がよく、improperねじれ角の導入も精度向上に貢献していることが明らかになった。

第5の観点は、座標間相関の構造エントロピーに対する寄与である。温度変化の場合、相関項は座標の独立項等に比べ値は小さいが、構造エントロピーの精度に関しては、相関項が精度向上に寄与していることがわかった。しかし、folding計算では、変性状態の構造多様性のため、相関項はむしろ精度悪化の原因となっており、相関項なしの独立項のみのほうが高精度であることが明らかになった。

以上のように、本研究では、QH、BQH法などの構造エントロピー計算法の精度を検証し、improperねじれ角等による精度向上を提案した。将来的には、本研究の成果が精度の高いタンパク質・リガンド間結合能予測などに応用されることが期待される。

論文審査結果の要旨

本学位論文の審査は、提出された論文の内容、公聴会、審査会での質疑応答に基づき、4名の審査員（主査：高橋 栄夫 教授、副査：木寺 詔紀 教授、副査：佐藤 衛 教授、副査：富井 健太郎 大学院客員教授）によって、平成28年12月16日に行われた。審査会では、専門分野、関連分野、外国語について、各審査委員と以下の質疑応答が行われた（公聴会での質疑応答も含む）。

高橋主査からは、タンパク質のエントロピー計算について、立体構造中の場所によって、構造エントロピーの誤差や大きさに違いはあるのかという質問があった。それに対し、エントロピーの誤差自体は、全体として見積もっているので部分に分割しにくい、表面にある側鎖などでは構造揺らぎが大きく構造エントロピーは比較的大きいという返答があった。構造エントロピーには、何の自由度の寄与が大きいのかという質問に関しては、温度変化過程では、自由度の数に応じており、結合長、結合角、ねじれ角、それぞれの寄与があるが、温度一定の構造変化過程では、ねじれ角の寄与が大きいという返答があった。さらに、レプリカ交換分子動力学計算と通常の分子動力学計算での違いについての質問に対しては、ねじれ角の遷移頻度が異なり、その結果、エントロピーの計算値の収束度合に大きな違いがあることを説明した。また、エントロピー計算に関連して、水和エントロピー計算についての質問に対しては、水分子の排除体積や表面積を用いる方法があるという返答を行った。

木寺副査からは、構造エントロピーと水和エントロピーには、カップリングがあるのかという質問があり、おそらくカップリングがあると思われるが、そこはまだ見積もっていないので正確なところはわからないとの返答であった。構造エントロピー計算法について、なぜデカルト座標系の方法の精度が悪いのかという質問に対しては、デカルト座標系では、相関のあり方が複雑になり、擬調和近似がよい近似ではないことを説明した。さらにシクロヘキサンでBQH法の精度が悪いことについての質問に対しては、シクロヘキサンの環状構造の構造変化においてねじれ角に3体以上の相関があり、それがBQH法の二体相関でよく記述できていないためだろうという返答があった。小タンパク質シニョリンのフォールディングでのBQH法のエントロピーの温度依存性の原因については、BQHの相関項の誤差が原因との答えがあった。

佐藤副査からは、クラウジウス法が正しい計算結果を与える方法であるとする、それを使えばいいではないかとの質問があった。それに対しては、クラウジウス法ではエントロピーの温度変化しか計算できないこと、クラウジウス法で構造エントロピ

一を求めるには温度非依存の陰的溶媒を用いねばならないという制限があることを説明した。本研究で行った、構造エントロピー計算におけるImproperねじれ角の導入について詳細な説明を求められ、その説明を行った。デカルト座標系と内部座標系の違いについて、座標系の変換だけだと通常は熱力学量に違いはないと思われるが、今回はなぜ大きく精度が異なるのかという質問に対し、擬調和近似の導入の時点で違いが生じ、デカルト座標系では相関のあり方が複雑になるので誤差が大きくなると返答した。

富井副査からは、低分子とタンパク質の中間的なサイズの分子については、どのように想定されるかという質問があった。シニョリンに関しては、Trp Cageの半分くらいのサイズではあるが、低分子で一番大きなオセルタミビルと比較してかなり自由度が大きいので、タンパク質側の振る舞いと似た挙動になるのではないかという返答があった。

続いて、関連分野（理学）に関する質疑応答が行われた。高橋主査からは、構造エントロピーを実験的に求める方法についての質問があり、NMRのオーダーパラメータについての説明を行った。佐藤副査からは、自由エネルギーの構成要素についての質問があった。内部エネルギーとPV項、エントロピー項からなり、内部エネルギー項には、共有結合に関するエネルギー、水素結合やファンデルワールス力、静電相互作用などが含まれるとの返答があった。さらに標準自由エネルギーについて質問されたが、うまく返答ができなかった。木寺副査からは、フォールディングの熱力学について、溶質、溶媒和の効果についての温度依存性についての説明を求められたが、完全とは言えないが、ある程度の返答がなされた。富井副査からは、相関項の改良の将来展望についての質問では、ヒストグラムを用いる方法がよいと想定されるが、まだ詳細はわからないとの返答であった。

外国語に関する科目については、本人の執筆による英文報告書の英文、および、スライド1枚についての英語口頭発表による審査を行った。誤字脱字や文法的なミスについての指摘があったものの、全体としては博士の学位のレベルに達していると判断された。

その後、審査員全員で討議を行った結果、専門分野、関連分野に関する質疑応答、英語力等すべてを総合的に判断し、申請者は学位を得るにふさわしい十分な資格を有すると判定された。